



特 許 願

昭和49年11月30日

特許庁長官 斉藤英雄 殿

1. 発明の名称

デンプンワカブ ショウワ  
澱粉糖化物の製造方法

2. 発明者

岡山県岡山市東古松2丁目10番22号

サカイ 修 造

3. 特許出願人

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

株式会社 林原生物化学研究所

代表者 林 原 健

4. 添附書類

(1) 明細書

(2) 願書副本

49 137174

明 細 書

1. 発明の名称

澱粉糖化物の製造方法

2. 特許請求の範囲

マルトース純度の高い糖組成を有する澱粉糖化物に対してマルトトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が $0.00/ \sim 0.1$ である $\alpha$ -アミラーゼを作用させることを特徴とした澱粉糖化物の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、高純度のマルトースを含む澱粉糖化物を製造するに際し、マルトース生成酵素による糖化中、或は糖化後におけるマルトース純度の高い糖組成を有する澱粉糖化物に対してマルトトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が $0.00/ \sim 0.1$ であるアミラーゼを作用させることによつて澱粉糖化物中のマルトトリオース量を低下させマルトース純度を向上させることを特徴としたマルトースを主成分とする澱粉糖化物の製造方法に関する。

① 日本国特許庁

## 公開特許公報

①特開昭 51-70833

④公開日 昭51.(1976) 6.18

②特願昭 49-137174

②出願日 昭49.(1974)11.30

審査請求 未請求 (全7頁)

庁内整理番号

6P77 4P

⑤日本分類

32 B222

⑤Int.Cl<sup>2</sup>

C12K 13/00

C12D 13/02

近年、マルトースの持つ長所が次々と見いだされ、その用途は急速に拡大されつつある。このためにマルトースを主成分とする澱粉糖化物に対する要望は非常に高まってきた。

従来、マルトースは液化澱粉に麦芽酵素(マルトース生成酵素)を作用させて、マルトース純度40~50%程度の澱粉糖化物を得ていた。近年になつて、澱粉枝切り酵素と $\beta$ -アミラーゼとの併用によつてマルトース純度50%以上の澱粉糖化物も比較的容易に得られるようになった。

しかし、マルトトリオースは澱粉からマルトース生成酵素、例えば、 $\beta$ -アミラーゼ、澱粉枝切り酵素等を用いて調製されるマルトースを主成分とする澱粉糖化物中に必ず生成し、しかもこのマルトトリオースはこれらの酵素によつては分解されないため、マルトース純度の増加には限界があった。従つて、これらの澱粉糖化物中のマルトース純度をさらに向上させるには、澱粉糖化物中のマルトトリオースをマルトースに分解させなければならないことが判明した。

本発明は澱粉糖化物中のマルトトリオースを分解して、より高純度のマルトースを含む澱粉糖化物を得るために、従来全く注目されていなかったマルトトリオース分解酵素としての $\alpha$ -アミラーゼに着目したものである。

$\alpha$ -アミラーゼは耐熱性が比較的大きいという長所を有していることは公知である。しかし、一般に $\alpha$ -アミラーゼは基質が高分子量のものに作用しやすく、低分子量のマルトトリオースにはきわめて作用しにくいこと、及びマルトースによつて抵抗障害を受けるという欠点を有していることも公知である。

本発明者はマルトースを含む澱粉糖化物中に存在するマルトトリオースを分解して、より高純度のマルトースを含む澱粉糖化物を得るために、 $\alpha$ -アミラーゼのマルトトリオース分解活性／ $\alpha$ -アミラーゼのマルトトリオース分解活性が0.001～0.1である $\alpha$ -アミラーゼは、基質である澱粉糖化物中のマルトース純度が高くなる程、それに含まれる

(3)

16788号公報、特公昭46-28151号公報、特公昭48-18826号公報等に記載されているエッシエリビア・インターメディア (*Escherichia inter-media*) AT00 21073、エーロバクター・エーロゲネス (*Aerobacter aerogenea*) AT00 8724、シュードモナス・アミロデラモサ (*Pseudomonas amyloclavata*) AT00 21262、コネリバクテリウム・セペドニカム (*Oorynebacterium sepedonicum*) IFO 3306、エーロモナス・ハイドロフィラ (*Aeromonas hydrophila*) IFO 3820、フラボバクテリウム・エステロアロマテイクム (*Flavobacterium esteroaromaticum*) IFO 3751、ビブリオ・メツニコビ (*Vibrio metchnikovii*) IFO 1039、アクチノプラネス・フィリピンネシス (*Actinoplanes philippinensis*) AT00 12427、ストレプトスポランギウム・ロゼウム (*Streptosporangium roseum*) AT00 12428等の培養液から調製されるブルナーゼ、イソアミラーゼ等が用いられる。このようにして得た澱粉糖化物中には反応方法によつて異なるが、一般に約5～25%のマルトトリオ

(5)

特開昭51-70833(2)

マルトトリオースをよく分解して、糖化物中のマルトース純度をさらに向上させるといふおどろくべき事実を見いだした。上記活性比が0.001～0.1である $\alpha$ -アミラーゼは、例えばかびのアスペルギルス (*Aspergillus*) 属、リゾプス (*Rhizopus*) 属、ペニシリウム (*Penicillium*) 属、オオスポラ (*Oospora*) 属等によつて生産される。本発明に用いる原料の澱粉は、アミロース、アミロペクチンの組成に関係なく、又、地上澱粉、地下澱粉のいずれも自由に用いることができる。マルトース純度の高い澱粉糖化液を得るためには、まず、澱粉乳を糊化するか又は液化する。

これにマルトース生成酵素、例えば $\beta$ -アミラーゼ、又は $\beta$ -アミラーゼと澱粉枝切り酵素等を作用させて糖化を進める。 $\beta$ -アミラーゼ剤は一般には小麦粉 (特公昭45-18937号公報参照)、大豆、さつまいも等から調製されるものが用いられる。澱粉枝切り酵素は各種微生物、例えば特公昭43-28939号公報、特公昭44-8070号公報、特公昭45-9229号公報、特公昭45-

(4)

ースを生じてマルトースの純度は約50～93%が限度となる。

本発明のマルトトリオース分解活性／ $\alpha$ -アミラーゼが0.001～0.1である $\alpha$ -アミラーゼの基質としては、澱粉糖化物のマルトース純度が高い程望ましい。特にマルトース80%以上の糖組成を持つ澱粉糖化物が好ましく、その濃度は20～300%が好適である。反応条件は30～70℃、PH3.0～9.0、基質固型物瓦当り $\alpha$ -アミラーゼ活性で1単位以上が望ましい。 $\alpha$ -アミラーゼの添加時期は澱粉糖化中又は糖化終了後に加えてもよい。すなわち、 $\alpha$ -アミラーゼは澱粉糖化物にマルトース生成酵素とともに作用させても、マルトース生成酵素による糖化終了後に別に作用させてもよい。

マルトース生成酵素とは澱粉質からマルトースを生成し、実質的にマルトース純度の低下を起さない酵素をいう。

上記 $\alpha$ -アミラーゼの反応によつて、マルトース純度の増加をはばんでいる澱粉糖化物中のマル

(6)

トトリオースを分解させ、マルトース純度をいじりしく向上させることができる。

このようにして得た澱粉糖化液は酵素を加熱失活させた後、濾過し、活性炭にて脱色し、続いてイオン交換樹脂にて脱イオンを行なった。

製品は、この脱イオンした糖液を濃縮して、シラップ状で、又は結晶状で、又は粉末状もしくは粒状で原料の固型分に対して96~99%の収率で得た。

本発明に用いる酵素活性の測定方法及び糖組成の定量は次のように行なった。

#### ( $\alpha$ -アミラーゼの活性測定)

1%可溶性澱粉溶液5mlと0.1M酢酸緩衝液(PH5.3)4mlとを試験管にとり、40℃に予熱後、この混液に適当に希釈した酵素液1mlを加え、経時的にその0.5mlを採取し、予め小型試験管に準備した0.002Nヨウ素溶液(0.002Nヨウ素、0.02Mヨウ化カリウムと0.2N塩酸の混液)0.5mlに加え発色させる。

#### (7)

反応させ、この反応液1ml当りに生成するグルコース量をグルコースオキシダーゼ法にて測定し、40℃/分間にマルトース/ $\mu$  moleを加水分解する酵素量をマルトース分解活性/単位とした。

#### (糖組成の定量)

シュガーハンドブック(686~687頁(1964)朝倉書店)に準じて澱粉糖化物をペーパークロマトグラフィーにて展開後、各成分に分離して抽出し、アントロン法にて定量化した。

以下にマルトトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が0.001~0.1である $\alpha$ -アミラーゼ剤の調製方法について述べる。通常、炭素源、氮素源、無機源、その他微量要素を含む液体又は固体培地を120℃で10~40分間滅菌したものゝに接種し、20~35℃で1~7日間静置又は通気培養する。

この培養物から調製した $\alpha$ -アミラーゼを含む液から濾過又は遠心分離等の方法で清澄液を得る。

反応液のヨウ素による呈色が標準の赤色(0.1Nヨウ素・ヨウ化カリウム溶液)と一致した点を反応の終点とする。この条件で酵素添加時から終点までに10分間を要する酵素力を1単位とする。

#### (マルトトリオース分解活性)

0.55%マルトトリオースを含む0.1M酢酸緩衝液(PH6.0)10mlに酵素液0.5mlを40℃で反応させ、この反応液1ml当りに生成するグルコース量をグルコースオキシダーゼ法(Anal. Biochem.

Vol. 30467(1969)参照)にて測定し、

40℃/分間にマルトトリオース/ $\mu$  moleを加水分解する酵素量をマルトトリオース分解活性/単位とした。

#### (マルトース分解活性)

0.55%マルトースを含む0.1M酢酸緩衝液(PH6.0)10mlに酵素液0.5mlを加え40℃で

#### (8)

特に液体培養の場合には菌体、菌糸体から公知の例えば超音波処理法、凍結融解法、自己消化法、細胞壁分解酵素による処理法、界面活性剤による方法等によつて、溶出させてもよい。以上のようにして調製した $\alpha$ -アミラーゼがマルトトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が0.001~0.1であるならそのまま用いてもよい。さらに高純度の $\alpha$ -アミラーゼを望むなら公知の、例えば熱処理する方法、PH処理方法、及び塩析法、ゲル濾過法等の各種の分離法によつて精製すればよい。

又、 $\alpha$ -アミラーゼの活性が低すぎる場合には、例えば硫酸又は有機溶媒による沈澱法、減圧濃縮法等によつて濃縮して用いる。 $\alpha$ -アミラーゼが市販されるもので上記活性の範囲内であれば、そのまま用いてもよいし、必要なら精製して用いる。

又、不純な $\alpha$ -アミラーゼ、例えばグルコアミラーゼや $\alpha$ -グルコシダーゼ等が混在するものであつても、マルトトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が0.001~0.1の範囲内であつて、マルトース純度の向上を実質的に妨げないならそ

のまま用いることができる。この際、特にマルトトリオース分解活性／マルトース分解活性 $\geq 2.5$ の酵素が望ましい。

さらに不純な $\alpha$ -アミラーゼであつても、マルトース純度の向上を妨げる酵素のインヒビターを共存させることによつて、 $\alpha$ -アミラーゼの効果を充分に発揮することもできる。

以下に実験例を示す。

実験1、各種起源の $\alpha$ -アミラーゼと基質濃度の影響基質は市販のマルトースを用い、濃度を0.2~4.0% (W/W) とした。これに $\alpha$ -アミラーゼを固型物瓦当り50単位ずつ添加してPH 6.0、40℃で20時間糖化した結果が第1表である。

すなわち、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.1%、 $\text{NaNO}_3$  0.1%、ポリペプトン 0.2%、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%、 $\text{KCl}$  0.05% からなる水溶液15部を総10部に加え、よく混合した後、120℃30分間オートクレーブした培地に、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) IFO 5710 アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)

IAM 2534、ペニシリウム・クリソゲナム (*Penicillium crysogenum*) IAM 7326、リゾプス・ヤポニカス (*Rhizopus japonicus*) IFO 4758、オオスポラ・オウランテア (*Oospora aurantia*) IFO 4606、をそれぞれ植菌し、27℃で5日間培養後、水100部を加えて、35℃に2時間保つて抽出した汁液に、2倍容の冷アセトンを加えて生じた沈澱を集め、この沈澱物を水で溶出した区分をとつて透析した。この透析液をDEAE-セルロースにて0.02~0.5M  $\text{NaCl}$  によるカラムクロマトを2回行なつて、 $\alpha$ -アミラーゼ区分を集め、硫酸で濃縮したものを用いた。

また、麦芽の $\alpha$ -アミラーゼは、J. Biol. Chem. Vol. 179, 1063 (1949) に記載されている、S. Schwimmer and A. K. Balls の方法で調製した。

細菌液化型 $\alpha$ -アミラーゼ、細菌糖化型 $\alpha$ -アミラーゼ、タカアミラーゼA はいずれも結晶標品で生化学工業(株)より購入したものである。

第 1 表		(ii)		糖 組 成 (%)					判定
$\alpha$ -アミラーゼ起源	マントトリオース分解活性	$\alpha$ -アミラーゼ活性	基質濃度 (%)	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext.		
反応前				0.4	90.5	2.4	1.7	±	
			0.2	0.8	91.7	5.8	1.7	±	
			2.0	2.0	93.5	3.2	1.3	+	
タカアミラーゼA結晶	0.0311		5.0	2.8	94.6	1.0	1.6	+	
			10.0	2.9	93.8	1.8	1.5	+	
			10.0	3.4	94.8	0.7	1.1	+	
			15.0	3.7	94.0	0.9	1.4	+	
			20.0	4.2	93.2	1.2	1.4	+	
			25.0	4.4	93.0	1.3	1.3	+	
			30.0	4.7	92.3	1.4	1.6	+	
			40.0	5.3	90.8	2.2	1.7	±	
			0.2	1.0	91.6	5.8	1.6	±	
アスペルギルス・オリゼ	0.0062		2.0	2.7	93.0	2.9	1.4	+	
			10.0	3.0	94.1	1.3	1.6	+	
			20.0	3.9	93.5	1.0	1.6	+	
IFO 5710			30.0	4.8	92.3	1.3	1.6	+	
			40.0	5.8	90.3	2.2	1.7	±	
			0.2	0.8	91.7	5.8	1.7	±	
アスペルギルス・ニガー	0.0145		2.0	2.0	93.5	3.1	1.4	+	
			10.0	2.6	94.4	1.8	1.2	+	
			20.0	3.0	93.0	2.6	1.4	+	
IAM 2534			30.0	3.0	92.2	3.4	1.4	±	
			40.0	3.5	91.2	3.7	1.6	±	
ペニシリウム・クリソゲナム	0.0139		0.2	1.2	91.3	6.0	1.5	±	
			10.0	3.2	94.8	0.9	1.1	+	
IAM 7326			20.0	3.8	93.3	1.3	1.6	+	

第 1 表 つづき		(12)		糖 組 成 (%)				判 定
$\alpha$ -アミラーゼ 起 源	マルトトリオース $\alpha$ -アミラーゼ 分解活性/活性	基質濃度 (% w/v)	$G_1$	$G_2$	$G_3$	Dext		
リゾプス・ヤポニ カス		5	3.4	93.0	1.9	1.7	+	
IFO 4758	0.0048	10	3.6	94.5	0.8	1.1	+	
		20	4.8	93.3	0.6	1.3	+	
オオスポラ・オウ ランテア		5	2.1	94.4	2.1	1.4	+	
IFO 4606	0.0157	10	3.2	93.9	1.4	1.5	+	
		20	3.5	93.8	1.5	1.2	+	
		0.2	0.4	90.3	2.6	1.7	±	
		2.0	0.5	90.8	6.7	2.0	±	
細菌液化型 $\alpha$ -アミラーゼ	0.0001	10.0	0.9	90.9	6.8	1.4	±	
結 晶	以下	20.0	0.7	90.7	6.6	2.0	±	
		30.0	0.8	89.9	2.4	1.9	±	
		40.0	0.4	90.7	6.8	2.1	±	
		0.2	73.7	23.5	1.3	1.5	—	
		2.0	72.0	20.1	1.0	1.9	—	
細菌糖化型 $\alpha$ -アミラーゼ	0.5580	10.0	68.6	28.7	0.8	1.9	—	
結 晶		20.0	64.4	31.7	1.5	2.4	—	
		30.0	64.5	29.6	2.3	3.6	—	
		40.0	60.3	32.0	3.0	4.7	—	
		5.0	0.9	90.6	6.8	1.7	±	
麦芽 $\alpha$ -アミ ラ ー ゼ	0.00047	10.0	1.2	90.7	6.7	1.4	±	
		20.0	1.4	90.6	6.3	1.7	±	

※ 使用酵素量を固型物瓦当り10単位とした。

※ 表中、 $G_1$ ,  $G_2$ ,  $G_3$ , Dext., +, ±, — それぞれ次の略号であり、以下の説明でも同様とする。 $G_1$ : グロース,  $G_2$ : マルトース,  $G_3$ : マルトトリオース, Dext.: マルトテトラオース以上のデキストリン, +: 効果あり, ±: 糖組成からは判定しにくい, —: 悪影響

第1表の結果から、細菌液化型 $\alpha$ -アミラーゼ(マルトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性=0.000/以下、以下同様に示す)、細菌糖化型 $\alpha$ -アミラーゼ(0.5580)、麦芽の $\alpha$ -アミラーゼ(0.00047)では、糖化物中のマルトース純度に向上が見られない。中でも、細菌糖化型 $\alpha$ -アミラーゼはマルトース純度をいちじるしく低下させている。これらの $\alpha$ -アミラーゼとは違つて、市販品タカアミラーゼA(0.03/1)と、アスペルギルス・オリゼ(0.0062)、アスペルギルス・ニガー(0.0/45)、ペニシリウム・クリソゲナム(0.0/39)、リゾプス・ヤボニカス(0.0048)、及びオオスポラ・オウランテイラ(0.0/57)等は、マルトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が0.00/以上、0.1/以下であり、これらの $\alpha$ -アミラーゼを作用させたものは糖化物中のマルトース純度がいちじるしく向上している。又、マルトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性が0.00/～0.1/である $\alpha$ -アミラーゼを用いて、基質濃度による影響を比較すると、

0.2%又は40%においては、マルトース純度の向上はわずかに見られるだけである。しかし、基質濃度20～300%の範囲においては、主にマルトリオースを分解しマルトース純度をいちじるしく向上することが判明した。

## 実験 2

基質澱粉糖化物中のマルトース純度による影響  
実験1で用いたタカアミラーゼAを、各種糖組成の澱粉糖化物に作用させてその影響をみた。すなわち、基質濃度は10%とし、素は基質の固型物瓦当り50単位ずつを加え、pH6.0、45℃で24時間作用させた。結果は第2表に示す。

第 2 表

反応前糖組成(%)				反応後糖組成(%)				※ マルトース生成率 (%)
G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext	
7.6	43.0	14.3	35.1	9.3	45.7	12.6	32.4	18.9
2.8	52.0	14.0	31.2	6.7	55.1	11.5	26.7	22.1
1.5	74.0	13.5	11.0	4.5	77.0	9.5	9.0	22.2
1.3	81.8	8.1	8.8	3.2	85.1	4.3	7.4	40.7
0.9	87.9	7.5	3.7	3.4	91.6	1.9	3.1	49.3
0.4	92.5	5.1	2.0	2.3	95.5	1.1	1.1	58.8
0.4	94.5	4.1	1.0	1.6	96.7	0.8	0.9	53.7

09

$$\text{※ マルトース生成率(％)} = \frac{(\text{反応後の } G_2 - \text{反応前の } G_2) \times 100}{\text{反応前の } G_1}$$

第2表の結果から明らかなように、タカアミラーゼAは澱粉糖化物中のマルトース純度が高くなる程、そこに含まれるマルトリオースをよく分解してマルトースの純度をさらに向上させることが判明した。特にマルトース80%以上の糖組成を持つ澱粉糖化物を基質とする時、マルトリオースからのマルトース生成率が高い。この事実は $\alpha$ -アミラーゼがマルトースによつて拮抗的に阻害を受けるという従来の考えからは全く予想できないものである。以下、実施例について述べる。

## 実施例 1

馬鈴薯澱粉1部を澱粉瓦当り1単位の細菌液化型 $\alpha$ -アミラーゼを含む水10部と攪拌後pH6.0に調整した。この懸濁液を90℃に加熱し、糊化と液化とを同時に起させ、直ちに130℃に加熱し、5分間保つた。これを50℃まで急速に冷却し、これにエツシエリヒア・インターメディア(

09

Escherichia intermedia) ATCC 21073の培養液から調製した澱粉枝切り酵素を澱粉瓦当り20単位と、大豆の $\beta$ -アミラーゼ(長瀬産業製、商品名\*1500)を同じく20単位とを加え、pH6.0に保つて46時間50℃で糖化した(A)。この糖化途中の反応24時間目(B)と糖化終了後酵素を加熱失活させた物(C)とに実験1で用いたマルトリオース分解活性/ $\alpha$ -アミラーゼ活性=0.03/1であるタカアミラーゼA(アスペルギルス・オリゼから調製され生化学工業(株)から市販されているもの)を澱粉瓦当り100単位に加え22時間糖化した。糖化終了後の結果は第3表に示す。なお、糖化24時間目の糖組成はグリコース0.2%、マルトース90.3%、マルトリオース4.9%、デキストリン4.6%であつた。

第 3 表

$\alpha$ -アミラーゼ 添加時期		糖 組 成 ( % )			
		G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext
無	添 加 (A)	0.6	91.5	5.2	2.7
糖	化 中 (B)	2.7	96.0	0.3	1.0
糖	化 後 (C)	2.7	95.1	0.5	1.7

この澱粉糖化物を加熱し、酵素を失活させ、濾過し、活性炭にて脱色し、イオン交換樹脂（H型、OH型）にて脱イオンし、減圧濃縮した。この濃縮物の収率はいずれも原料固型物当たり97%であつた。これを結晶化させ、結晶の形状と分蜜時間の比較及び仕込糖化液固型物当りの結晶マルトース（1番晶、2番晶の合計）の収率を求めた。結果は第4表に示す。

第 4 表

酵素添加時期	結晶の形状	分蜜時間比	結晶マルトース収率(%)
無添加(A)	良	100	35.0
糖化中(B)	きわめて良	37	71.4
糖化後(C)	きわめて良	42	67.7

以上の結果から $\alpha$ -アミラーゼと澱粉枝切り酵素とに素とによる澱粉の糖化中に加えても、又、それらの酵素による糖化後に加えても澱粉糖化物のマルトース純度の向上にどちらもいちじるしい効果を示した。又、第4表が示すようにタカアミラーゼ

19

この糖化物は実施例1と同様に精製し、濃縮した。濃縮物の収率はいずれも原料固型物当たり約97%であつた。これを結晶化させ、結晶の形状と分蜜時間の比較及び仕込糖化液固型物当りのマルトース（1番晶、2番晶の合計）の収率を求めた。結果は第6表に示す。

第 6 表

$\alpha$ -アミラーゼ起源	マルトリ オース分 解活性 $\alpha$ -アミ ラーゼ活性	結晶の 形状	分蜜 時間 比	結晶マ ルトース の収率(%)
無添加		良	100	35.0
タカアミラーゼA(結晶)	0.0311	極めて良	37	70.6
アスペルギルス・オリゼ (IFO5710)	0.0062	極めて良	40	71.3
アスペルギルス・ニガー (IAM2534)	0.0145	極めて良	42	66.3
ペニシリウム・ クリソゲナム (IAM7326)	0.0139	極めて良	40	69.5
リゾパス・ヤポニカス (IFO4758)	0.0048	極めて良	43	64.8
オオスポラ・ オウランティヤ (IFO4606)	0.0157	極めて良	39	68.0

(21)

特開昭51-70833(6)

Aを使用することにより、マルトース純度の向上とともに結晶の分蜜時間は約1/2となり、結晶マルトースの収率は約2倍に上昇した。なお、糖化時間の短縮という点からは、 $\alpha$ -アミラーゼを他の素とともに作用させる方が望ましい。

## 実施例 2

実施例1で得られた糖化24時間目(B)の糖化液に実験1の $\alpha$ -アミラーゼを原料の澱粉瓦当たり50単位ずつ加え実施例1と同様に糖化した。得られた糖化物の糖組成は第5表の通りであつた。

$\alpha$ -アミラーゼ起源	マルトリ オース 分解活性 $\alpha$ -アミ ラーゼ活性	糖組成(%)			
無添加		G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext
タカアミラーゼA(結晶)	0.0311	0.69	1.5	5.2	2.7
アスペルギルス・オリゼ (IFO5710)	0.0062	2.4	9.5	3.0	0.9
アスペルギルス・ニガー (IAM2534)	0.0145	3.6	9.3	9.0	0.8
ペニシリウム・クリソゲナム (IAM7326)	0.0139	3.4	9.3	9.0	0.9
リゾパス・ヤポニカス (IFO4758)	0.0048	5.0	9.2	9.0	0.7
オオスポラ・オウランティヤ (IFO4606)	0.0157	2.6	9.4	5.1	1.8

20

以上の結果が示すように、 $\alpha$ -アミラーゼを使用することによりマルトース純度の向上とともに結晶の分蜜時間は約1/2となり、結晶マルトースの収率は約2倍に上昇している。このようにして調製した結晶マルトースは注射用マルトースに好適である。

## 実施例 3

コンスターチ1部を、澱粉瓦当たり2単位の細菌液化型 $\alpha$ -アミラーゼを含む水4部と攪拌後、pH6.0に調整した。この懸濁液を90℃に加熱し、糊化と液化とを同時に起させた。これを120℃に10分間保つた。これを50℃に冷却し、続いて、固型物瓦当たりシュドモナス・アミロデラモサATCC21262のイソアミラーゼ10単位と小麦表皮の $\beta$ -アミラーゼ10単位とを加え、pH5.0に保つて、50℃で46時間糖化した。この糖化液を70℃に加熱して反応をとめた。これに実験1で用いたタカアミラーゼA糖化物固型物瓦当たり50単位を加え、50℃、pH6.0で24時間糖化した。糖組成は第7表の通りとなつた。

(22)

昭和51年2月18日

タカアミラーゼ A	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>	Dext
無 添 加	1.3	81.8	8.1	8.8
添 加	3.3	85.2	4.2	7.3

特許庁長官 片 山 石 郎 殿

タカアミラーゼ A で処理した糖化物は、実施例 / と同様に精製し、水分約 10% に濃縮した。シードを添加したものは、ブロック化も切削もきわめて容易であつた。このようにして得た結晶性の粉末は原料固型物当り約 96% の収率であつた。

## 実施例 4

実施例 3 のタカアミラーゼ A で処理した糖化物を実施例 / と同様に精製し、水分約 25% に濃縮して、シードを添加しマスキットを調製し、噴霧乾燥した。結晶性粉末を原料固型物当り約 97% の収率で得た。このようにして得た製品はタカアミラーゼ A の無添加のものと比較して、良好な結晶性粉末であつて、商品価値がいちじるしく増した。

(23)

## 5. 補正の内容

- (1) 明細書第 2 頁第 17 行記載の「これら」を「これら」に補正します。
- (2) 同第 4 頁第 16 行記載の「小麦粉」を「小麦穀」に補正します。
- (3) 同第 5 頁第 4 行記載の「inter-media」を「intermedia」に補正します。
- (4) 同頁第 6 行記載の「Pseudomonas」を「Pseudomonas」に補正します。
- (5) 同頁第 12 行記載の「ビブリオ」を「ビブリオ」に補正します。
- (6) 同頁第 13 行記載の「Vibrio」を「Vibrio」に補正します。
- (7) 同頁第 15 行記載の「philippinesis」を「philippinensis」に補正します。
- (8) 同第 8 頁第 10 行記載の「Biochem. Vol. 30.467」を「Biochem. Vol. 30,467」に補正します。
- (9) 同第 10 頁第 11 行記載の「低すぎる」を「低す

## 1. 事件の表示

昭和 49 年特許願第 137174 号

## 2. 発明の名称

澱粉糖化物の製造方法

## 3. 補正をする者

特許出願人

岡山市下石井 1 丁目 2 番 3 号

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原

## 4. 補正の対象

明細書における「発明の詳細な説明」の項

ぎる」に補正します。

- (10) 同第 11 頁第 9 ~ 10 行記載の「実験 1. 各種起源……濃度を 0.2」を次のように補正します。

## 「実験 1.

各種起源の  $\alpha$ -アミラーゼと基質濃度の影響

基質は市販のマルトースを用い、濃度を 0.2」

- (11) 同第 12 頁第 15 行記載の「AK. Balls」を「A. K. Balls」に補正します。

- (12) 同第 13 頁における第 1 表の最上段、左から第 2 欄記載の「マツトリオース分解活性 /  $\alpha$ -アミラーゼ活性」を「マルトリオース分解活性 /  $\alpha$ -アミラーゼ活性」に補正します。

- (13) 同第 18 頁第 13 行記載の「グリコース」を「グルコース」に補正します。

- (14) 同第 20 頁下側記載の表の上に表題として「第 5 表」を挿入します。

- (15) 同第 23 頁下から第 6 行記載の「約 25% 濃縮し」を「約 25% に濃縮し」に補正します。